

禾草类内生真菌的研究进展*

任安芝 高玉葆**

(南开大学生命科学学院 天津 300071)

摘要: 感染内生真菌的禾草在牧草和草坪业上具有重要的生态和经济意义。关于禾草和内生真菌的互利共生作用已有大量报道,文中就近年来有关禾草类内生真菌的起源和进化、内生真菌的生物和生态学作用以及内生真菌的应用前景方面的研究进展作一综述,以期更好地利用内生真菌造福人类。

关键词: 内生真菌, 禾草, 起源, 胁迫

中图分类号: Q93 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2004) 02-0130-04

RECENT RESEARCH PROGRESS ON GRASS-ENDOPHYTE SYMBIOSIS

REN An-Zhi GAO Yu-Bao

(College of Life Science, Nankai University, Tianjin, 300071)

Abstract: Grasses infected by endophytes have an extraordinary impact on the ecology and economy of pasture and turf. In this review, we presented recent research progress on origin and evolution, biological and ecological impact, and perspective of the association in order to make full use of the widely distributed endophyte resources.

Key words: Endophyte, Grass, Origin, Stress

有关植物内生真菌的研究可以追溯到 19 世纪末期,但直至 1977 年, Bacon 等人从毒性高羊茅中分离出内生真菌,其后内生真菌与植物之间关系的研究才正式开展起来。目前内生真菌已经在一些重要的经济林木如针叶类的冷杉、云杉、红杉、松柏等以及阔叶的栎树、桦树、桉树等植物的树皮、枝叶内相继被发现,此外在许多灌木和草本,甚至在藻类、苔藓、蕨类植物中也发现了内生真菌。禾草类内生真菌与其它无处不在的内生真菌的区别在于其和宿主植物形成非常密切的联系,到目前为止,全世界至少在调查过的 80 个属的 290 多种禾草中发现有与之共生的内生真菌。

1 禾草类内生真菌的基本特征

禾草类内生真菌主要集中在子囊菌纲、麦角菌科 (Clavicipitaceae)、瘤座菌族 (Balansieae) 的瘤座菌属 (*Balansia*) 和香柱菌属 (*Epichloe*) 中,其中香柱菌属的无性型 *Neotyphodium* 因其与栽培牧草的密切关系而受到广泛关注。*Neotyphodium* 属内生真菌终年以菌丝形式定居于宿主植物体内,不产生子座和孢子,只通过菌丝生长进入宿主植物的繁殖器官,经种子传播。

* 国家自然科学基金资助项目 (No.30240083) (No.30370239)
Project Granted by Chinese Natural Science Fund (No.30240083) (No.30370239)
教育部科学技术研究重点资助项目 (No.03046)

** 联系人 E-mail: ybgao@nankai.edu.cn
收稿日期: 2003-06-23, 修回日期: 2003-10-20

2 禾草类内生真菌的起源和进化

形态、化学和宿主范围等方面的证据显示内生真菌是从类似于当代麦角菌 (*Claviceps* spp.) 的一个祖先演化而来的, 二者的不同点主要在于宿主植物体内的生长特征: (1) 大多数麦角菌是子房寄生菌, 感染麦角菌的植物因避开了哺乳动物的取食而获得一些好处, 但对定点取食的昆虫而言, 因宿主植物的叶片不含真菌, 相应不含生物碱, 因而宿主植物不能获得好处; 与之相反, 感染内生真菌的植物的地上组织全分布有生物碱, 因而既对哺乳动物也对昆虫起作用。(2) 就象麦角菌能引起宿主植物小花败育一样, 一些内生真菌也抑制开花或引起整个花序的败育。真菌感染从定位到全身是从寄生到互利进化中的重要一步; 从宿主败育到能育的转变使宿主不仅有旺盛的生长力、阻抑取食, 而且能育, 也是从寄生到互利变化中的关键点。

White 提议将 *Neotyphodium* 和 *Epichloe* 中的所有种作为一个复合体, 按照传播方式的不同将其划分为3类: (1) 多数形成子座, 抑制宿主的有性繁殖, 引起宿主植物小花败育, *E. typhina* 即属于此类。(2) 只有少数感染个体形成子座, 对宿主的影响小, 主要通过种子传播, 属于过渡类型, 感染细羊茅的 *E. festucae* 即属于此类。(3) 不产生子座, 体外培养时生长缓慢, 属于互利共生, *Neotyphodium* 属内生真菌即属于此类。关于 *Neotyphodium* 属内生真菌和香柱菌属真菌的进化相关性主要有以下几方面的证据: 从宿主范围而言, 二者均主要出现在北温带的大多数禾亚科 (Pooideae) 植物中, 但瘤座菌族中的其他成员可感染所有的6个亚科, 说明 *Neotyphodium* 和香柱菌属可能有共同的祖先。

从进化角度看, 香柱菌属从有性型 *Epichloe* 演化成无性型 *Neotyphodium* 是一种进化, 表现在冷季型草存在的高纬度、高海拔地区孢子传播的机会少, 而种子传播更有利; 代表生殖隔离的一种手段, 种子传播避免了交叉感染; 宿主从败育到能育的转变使宿主不仅有旺盛的生长力、阻抑取食, 而且能育; 保护种子不被取食的一种策略; 在感染水平较高的情况下, 通过产生孢子感染新个体的机会小, 而种子传播的机会更大。

从分子生物学方面的证据来看, *Neotyphodium* 属的多数种是由 *Epichloe* 属的不同种间或与 *Neotyphodium* 属的种进行杂交而形成的, 种间杂交是禾草类内生真菌遗传多样性的主要原因^[1], 而种间杂交是以禾草类双重或多重感染为前提的, 当宿主植物被两种 *Epichloe* 和 *Neotyphodium* 属内生真菌同时感染时, 两种内生真菌会发生准有性重组从而产生新的菌种。至于 *Neotyphodium* 属中的非杂交种如 *N. lolii*, 基因序列分析结果表明它可能源于 *E. festucae* 感染黑麦草后丧失有性能力而形成的。

从产生生物碱的角度来看, *Neotyphodium* 属内生真菌普遍具有产生生物碱的能力, 但在 *Epichloe* 中只发现 *E. festucae* 具有产生麦角碱、lolitrem 和黑麦草碱的能力, 推测 *E. festucae* 可能在杂交中起主要贡献^[2]。生物碱表达水平较高的内生真菌可能来自纯的无性菌。

3 禾草类内生真菌的生态学作用

植物与内生真菌的关系是互惠共生的, 表现在一方面植物为内生真菌提供光合产物和矿物质; 另一方面内生真菌的代谢物能刺激植物的生长发育, 提高宿主植物对生物胁迫和非生物胁迫的抵抗能力。

3.1 促进宿主植物的生长发育 感染内生真菌的植物一般比非感染植物更具生长优

势,具体表现在种子发芽、幼苗存活、分蘖生长、花序、生物量等多个方面。内生真菌的这种促进作用可从两方面来解释:一方面,禾草类内生真菌在体外培养时可产生植物生长激素如 IAA 等;另一方面,内生真菌可促进禾草类对氮、磷等营养元素的吸收。

3.2 增强宿主植物的抗逆性 非生物胁迫:内生真菌的存在可提高宿主植物对干旱、高温、重金属污染、紫外辐射等非生物胁迫的抗性,其中以内生真菌增强植物抗旱性方面的报道最多。关于内生真菌增强植物抗旱性的可能机制可以从回避干旱和忍耐干旱两方面来分析:前者主要表现在干旱条件下,与未感染植株相比,内生真菌感染植株的根系更深、更密、根干重增加^[3],气孔关闭更为迅速,或是感染植株分蘖基部的水分含量相对较高^[4]等;后者表现在干旱条件下,感染植株分蘖中可积累更多的碳水化合物^[5]等以提高感染植株的渗透调节能力,或是内生真菌感染可降低细胞壁的脆性,这些都有助于感染植株在干旱条件下维持膨压以适应生理生化过程的正常进行;另外,有些感染植物在干旱条件下以降低生长为代价以维持生理生化过程,当复水后使宿主植物迅速再生长^[6]。生物胁迫:内生真菌感染可以增强宿主植物对食草动物和食草昆虫的取食、线虫和病原菌的危害以及其它植物的竞争等,其原因主要在于内生真菌感染植株可产生生物碱,现已知的由禾草类内生真菌产生的生物碱可分为4大类:双吡咯烷类生物碱(如黑麦草碱)、并吡咯吡嗪(如过胺)、麦角碱、吲哚二萜(如 lolitrem),其中黑麦草碱和过胺是昆虫阻食剂,而 lolitrem B 和麦角碱氨基酸可使哺乳动物中毒。不同共生体积累生物碱的类型和总量各不相同,生物碱产量出现显著差异的可能机制如下:一是宿主植物形态的变异,现已知生物碱的产生与菌丝含量密切相关^[7],而叶鞘是内生真菌主要的分布区域,故当植物的叶鞘比例较大时,有可能产生更多的生物碱;二是植物和内生真菌之间的拮抗^[8],这种拮抗作用的存在可能影响到同一种植物不同基因型中内生真菌菌丝的含量,进一步影响生物碱的产量;三是缺乏产生生物碱的植物代谢物,现已知生物碱的产量既与氮肥、磷肥、钙肥有关,也与氮源有关。

3.3 禾草类内生真菌对生物群落和生态系统的影响 关于禾草类内生真菌的生态作用早期的研究主要集中在个体和种群水平,近年来随着人们对内生真菌认识的提高,不少研究者提出这一类最容易被人们忽视的生物多样性可能在群落和生态系统水平同样具有一定的作用,其中最具代表性的研究是 Clay^[9]发表在 Science 和 Omacini 等^[10]发表在 Nature 的工作。Clay 长达 4 年的田间实验表明:内生真菌感染虽然没有提高地上部分的生物量,但却增强了其宿主草在群落中的优势地位,降低物种多样性,导致群落结构的改变;Omacini 等的研究进一步表明内生真菌感染可通过降低宿主植物的可食性而影响食物网的能量传递,改变群落的营养结构。因此,影响群落结构的生物因素除竞争和捕食外,与植物共生的内生真菌同样也具有重要作用。

4 禾草类内生真菌的应用前景

4.1 优良的牧草和草坪草资源 植物内生真菌是一类应用前景广阔的资源微生物。就目前来看,虽然内生真菌对家畜的毒性问题还没有完全解决,使其在粮食作物生产和牧草栽培中的应用受到一定限制,但对于城市草坪来说,内生真菌的这些特性恰好是人们所期望的。至于人们所关注的家畜中毒问题,目前也有新进展,一方面 Hill 等^[11]已经筛选出产生黑麦草碱和过胺但不产生 lolitrem B 和麦角碱氨基酸的内生真菌;另一方

面 Wang 等^[12]从草类内生真菌中克隆出 DMAT 合成酶基因, 将该基因剔除后的内生真菌仍然保留着完全的与宿主草共生的特性, 只是不产生麦角甾氨酸, 因此可通过控制该基因的表达而达到人为控制麦角碱含量的目的。对于吲哚二萜而言, 首先成功克隆的是控制蕈青霉素 (paxilline) 生物合成的基因簇, 蕈青霉素与禾草内生真菌产生的 lolitrems 结构相似, 其中 *paxC* 基因已被证实是蕈青霉素生物合成中具关键作用, 而且 *paxC* 基因已经从 *N. lolii* 中克隆出来^[13], 由此推测吲哚二萜基因簇很可能负责 lolitrems 的合成。总之, 这些毒性基因的克隆将会大大改良内生真菌, 使得感染内生真菌的禾草资源的应用将更为广泛。

4.2 内生真菌与生物农药 禾草类内生真菌的专一性很强, 除了对其宿主植物及取食或感染宿主植物的生物起作用外, 对其他生物没有直接影响, 而且可通过人工接种被导入不同的植物并可通过宿主的种子进行遗传, 内生真菌产生的黑麦草碱已被证实是一种广谱杀虫剂^[14], 这些优良性征使得内生真菌有望作为生物农药。获得内生真菌生物农药的方法虽然有: 从已经存在的感染植物中筛选所需要的材料、根据内生真菌通过宿主种子遗传的特性培育所需的品种等, 但最直接也是最具发展前途的方法是通过人工接种直接将外源内生真菌导入未感染植株。目前, 人们不但可以将分离出的内生真菌重新导入其自然宿主中, 而且可以导入宿主植物的近源种中, 报告基因葡糖醛酸糖苷酶基因 (GUS)^[15] 和绿色荧光蛋白基因 (GFP)^[16] 在内生真菌中的成功表达既可以对接种的效果进行检验, 也为内生真菌在不同时间、宿主植物不同部位的分布进行定量提供了可能。

5 结束语

综上所述, 植物内生真菌是一个庞大的类群, 而我们现在知道的只是其中一小部分。据估计, 至少还有 130 多万种有待于我们去发现, 更多的优良特性等待我们去探索。

参考文献

- [1] Tredway L P, White J F, Gaut B S, *et al.* Mycological Research, 1999, 103 (12): 1593 ~ 1603.
- [2] Clay K, Schardl C. American Naturalist, 2002, 160 (suppl): 99 ~ 127.
- [3] Malinowski D, Leuchtmann A, Schmidt D, *et al.* Agron J, 1997, 89: 833 ~ 839.
- [4] 任安芝, 高玉葆, 高文生. 植物生态学报, 2002, 26 (4): 420 ~ 426.
- [5] 任安芝, 高玉葆, 李 侠. 应用与环境生物学报, 2002, 8 (5): 535 ~ 539.
- [6] Eerens J P J, Lucas R J, Easton H S, *et al.* N Z J Agric Res, 1998, 41: 219 ~ 226.
- [7] Easton H S, Latch C C M, Tapper B A, *et al.* Crop Sci, 2002, 42: 51 ~ 57.
- [8] Schulz B, Rommert A K, Dammann U, *et al.* Mycol Res, 1999, 103: 1275 ~ 1283.
- [9] Clay K, Holah J. Science, 1999, 285: 1742 ~ 1744.
- [10] Onacini M, Charetton E J, Ghersa C M, *et al.* Nature, 2001, 409: 78 ~ 81.
- [11] Hill N S, Hiatt E E, Bouton J H, *et al.* Crop Science, 2002, 42: 1627 ~ 1630.
- [12] Wang J, Machado C, Panaccione D, *et al.* Fungal Genet News, 1999, 46: 120.
- [13] Scott B. Current Opinion in Microbiology, 2001, 4: 393 ~ 398.
- [14] Blankenship J D, Spiering M J, Wilkinson H H, *et al.* Phytochemistry, 2001, 58: 395 ~ 401.
- [15] Herd S, Christensen M J, Saunders K, *et al.* Microbiology, 1997, 143: 267 ~ 275.
- [16] Mikkelsen L, Roulund N, Lubeck M, *et al.* Mycol Res, 2001, 105: 644 ~ 650.